

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 58-047001  
 (43)Date of publication of application : 18.03.1983

(51)Int.Cl. C08B 37/00  
 B01J 20/24  
 C07G 17/00

(21)Application number : 56-147232 (71)Applicant : SUMITOMO CHEM CO LTD  
 (22)Date of filing : 17.09.1981 (72)Inventor : HAYATSU HIKOYA  
 TEZUKA YASUO

**(54) PHTHALOCYANINE/SUGAR CONJUGATE, ITS PRODUCTION AND TREATMENT OF MUTAGENIC SUBSTANCE WITH THE SAME**

**(57)Abstract:**

**PURPOSE:** A phthalocyanine/sugar conjugate useful in removing by adsorption, a mutagenic substance present in a solution in a trivial amount, prepared by coupling an activated polysaccharide with a ligand which is a water-soluble compound having a phthalocyanine nucleus.

**CONSTITUTION:** A phthalocyanine/sugar conjugate represented, in its free acid form, by formula I, wherein  $Pc$  is a metallized or nonmetallized phthalocyanine residue,  $A$  is a  $2W6C$  alkylene, a monocyclic  $W$  tricyclic arylene,  $2 < m+n \leq 4$ ,  $1 \leq n \leq 2$  and  $Z$  is a residue of an activated polysaccharide, or by formula II, wherein  $CuPo$  is a copper phthalocyanine residue. The conjugate is prepared by coupling a ligand which is a water-soluble compound of formula III with an activated polysaccharide. A mutagenic substance can be treated by effecting adsorption of the mutagenic substance in solution by the phthalocyanine/sugar conjugate and, if necessary, effecting its desorption.

**LEGAL STATUS**

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

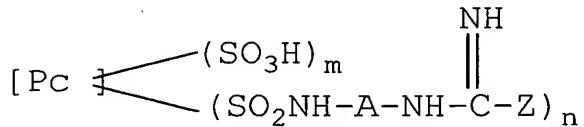
[Date of requesting appeal against examiner's

decision of rejection]

[Date of extinction of right]

## Claims

1. A phthalocyanine-saccharide conjugate, which in the form of free acid has the following formula:



5 wherein  $P_c$  is a metal-containing or metal-free  
phthalocyanine residue,  $A$  is an alkylene group of 2 to 6 carbon  
atoms,  $m$  and  $n$  satisfy  $2 < m+n \leq 4$  and  $1 \leq n \leq 2$ , and  $Z$  is an activated  
agarose residue.

## ⑯ 特許公報 (B2)

昭61-13481

⑯ Int. Cl. 4

C 08 B 37/12  
B 01 J 20/24

識別記号

厅内整理番号

7133-4C  
7106-4G

⑯ ⑯ 公告 昭和61年(1986)4月14日

発明の数 3 (全5頁)

⑯ 発明の名称 フタロシアニン糖結合体、その製法およびそれを用いる変異原性物

質の処理法 Application no.

Publication no.

前置審査に係属中

⑯ 特願 昭56-147232

Date of filing ← ⑯ 出願 昭56(1981)9月17日

⑯ 公開 昭58-47001 A

⑯ 昭58(1983)3月18日

特許法第30条第1項適用 昭和56年7月18日 日本薬学会中国支部 第61回例会講演要旨集に発表

Date of publication of application

⑯ 発明者 早津彦哉 岡山市津島中一丁目4番 1-201号

⑯ 発明者 手塚康男 茨木市舟木町7番3号

⑯ 出願人 住友化学工業株式会社 大阪市東区北浜5丁目15番地

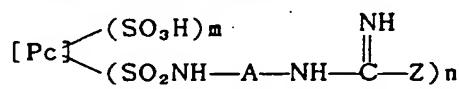
⑯ 代理人 弁理士 木村勝哉

審査官 今井勲

大雄平

⑯ 特許請求の範囲

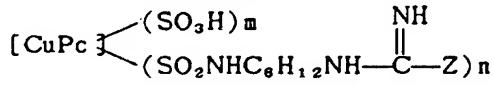
1 遊離酸の形で一般式



(式中Pcは、金属含有又は金属を含まないフタロシアニン残基を表わし、Aは炭素2~6個のアルキレン基を表わし、m及びnは2<m+n≤4で且つ1≤n≤2を満す。Zは活性化されたアガロースの残基を表わす。)

で表わされるフタロシアニン糖結合体。

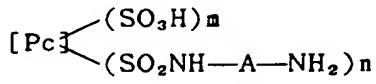
2 遊離酸の形で下記式



(式中CuPcは銅フタロシアニン残基を表わし、Zは前述の意味を表わす。)

で表わされる特許請求の範囲第1項のフタロシアニン糖結合体。

3 遊離酸の形で一般式



(式中Pcは、金属含有又は金属を含まないフ

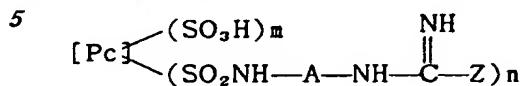
タロシアニン残基を表わし、Aは炭素2~6個のアルキレン基を表わし、m及びnは2<m+n≤

1 partial  
translation  
attached.

2

4 で且つ1≤n≤2を満す。)

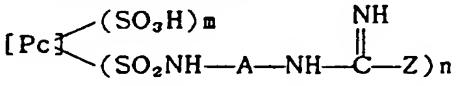
で示される水溶性化合物をリガンドとし、活性化されたアガロースとカップリングさせることを特徴とする一般式



(式中Pc, A, m, nは前記の意味を有し、Zは活性化されたアガロースの残基を表わす。)

10 で示されるフタロシアニン糖結合体の製法。

4 遊離酸の形で一般式



(式中Pcは、金属含有又は金属を含まないフタロシアニン残基を表わし、Aは炭素2~6個のアルキレン基を表わし、m及びnは2<m+n≤4で且つ1≤n≤2を満す。Zは活性化されたアガロースの残基を表わす。)

20 で示されるフタロシアニン糖結合体を用いて溶液中の変異原性物質を吸着させ、ついで必要により脱着させることを特徴とする変異原性物質の処理法。

発明の詳細な説明

25 本発明は溶液、特に水溶液中に微量に混在する変異原性物質の選択的な吸着除去に有用な金属含

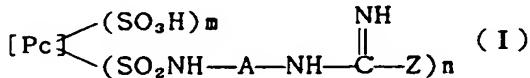
有又は不含有フタロシアニン-糖結合体に関するものである。

近年、環境、食品等に微量に混在する有害物質、特に環境変異原等の変異原物質のヒトに及ぼす影響が注目されるに至っている。このため、これらの物質のヒトに与える影響の研究とともに、その除去技術の開発は重要な課題であった。

本発明はかかる見地から溶液、特に水溶液中に微量に混在する変異原性物質の選択的な吸着除去に有用な、新規な処理剤を提供することを目的として形成されたものである。

一般に、ゲル形成能多糖類を、例えばシアノゲンプロミドのような活性化剤を用いて活性化して得られた活性化多糖類と、タンパク質や核酸のようなリガンドをカップリングさせ、生成するリガンド-多糖類結合体が、特異的抗体の分画、精製やDNAに結合する酵素の精製等に利用されていた。本発明者らはこの性質を利用して有害物質を選択的に除去すべく種々のリガンドについて追求した結果、遂に本発明に到達した。

すなわち本発明は、遊離酸の形で一般式(I)



(式中Pcは、金属含有又は金属を含まないフタロシアニン残基を表わし、Aは炭素2~6個のアルキレン基を表わし、m及びnは2<m+n≤4で且つ1≤n≤2を満す。Zは活性化されたアガロースの残基を表わす。)

で表わされるフタロシアニン糖結合体、及びその製法、及びそれを用いる変異原性物質の処理法である。

本発明のフタロシアニン糖結合体は、遊離酸の形で一般式(II)



(式中Pcは、金属含有又は金属を含まないフタロシアニン残基を表わし、Aは炭素数2~6個のアルキレン基を表わし、m及びnは2<m+n≤4、1≤n≤2を同時に満す。)

で示される水溶性化合物をリガンドとし、活性化されたアガロースとカップリングさせて得られる。

本発明の一般式(I)で示される水溶性化合物のフタロシアニン核に含まれる金属の種類としては、例えば銅、鉄、ニッケル、コバルト、アルミニウム等を挙げることができる。又アルキレン基としては、直鎖状又は分枝状のアルキレン基が挙げられる。

次に本発明のフタロシアニン糖結合体の製法を詳しく述べる。例えばフタロシアニン化合物とクロロスルホン酸とを130~135°Cにて反応させ、氷水に排出して得られる結晶を沪過し、氷水で洗浄してクロロスルホニルスルホ銅フタロシアニン化合物のウエットケーキを得る。このウエットケーキを0~5°Cの冷水中に加え、アルカリにてpH5まで中和した後、15°Cまで昇温する。一般式H<sub>2</sub>N-A-NH<sub>2</sub>(式中Aは、前記の意味を表わす。)で示されるジアミン(フタロシアニンに対して1~1.5モル倍量)を一挙に加えた後20~25°Cに保温し、この間アルカリにてpH9~11に保持する。かくして一般式(II)で示される化合物のリガント溶液を得る。

別に糖誘導体をリン酸カリウムバッファー液(pH11.9)中シアノゲンプロミドと反応させてシアノゲンプロミド活性化糖を調製しておき、前記リガンド溶液と混合し、室温にて一夜振とうしかップリングさせる。カップリング終了後、低分子第1級アミンにて余剰の活性基をプロテキングさせて得られたフタロシアニン-糖結合体を酢酸バッファー液及び重曹バッファー液にて十分洗浄する。

本発明のフタロシアニン-糖結合体は、溶液特に水溶液中に、希薄な状態で存在する変異原性物質とりわけ含窒素変異原性物質に対して選択的吸着除去効果を示す。また、本発明においては一定量吸着後、脱着させることにより変異原性物質の濃縮を行うことができる。

以下、本発明を実施例にてさらに詳しく説明する。例中部は重量部を意味する。

#### 実施例

1 [N-(6-アミノヘキシル)スルファモイル]ポリスルホフタロシアニナト銅の合成  
クロロスルホン酸184部の中に、20~25°Cで攪拌しながらフタロシアニナト銅23.7部を加える。その後1時間で130°Cまで昇温し次いで130~135°Cにて10時間保温攪拌する。反応終了後

50°Cまで冷却し、水170部に氷770部及び塩化ナトリウム43部を加えた氷水中に約30分間かけてゆっくりと排出する。排出終了後、吸引沪過し、水200部を氷にて5°Cに冷却した後冷水を用い、3回に分けて洗浄する。得られたウエットケーキ全量を、水200部と氷100部の冷水中に懸濁させ、15%ソーダ灰水溶液にてpH5まで中和する。pH4~5に保持しつつ徐々に15°Cまで昇温し、15%ソーダ灰水溶液にてpH8に調整し、この液の中に10%ヘキサメチレンジアミン水溶液60部を一挙に加え、20°Cに昇温し、20~25°C、pH10~10.5に保持しながら6時間攪拌する。この反応液をこのまま80°Cにて40時間乾燥する。

[N-(6-アミノヘキシル)スルファモイル]ポリスルホタロシアニナト銅を主成分とする青色色素48部を得る。この色素は液体クロマトグラフィーによつてタロシアニン核1個当たり[N-(6-アミノヘキシル)スルファモイル]基の個数は0.54であつた。この色素は主成分のほかに不純色素としてポリスルホタロシアニナト銅、N、N'-ヘキサメチレンビス(スルファモイル)ポリスルホタロシアニナト銅)も含まれているが、これらは次の項で説明するカップリング後の洗浄により除去され25る。

## 2 シアノゲンプロミド活性化アガロースゲルの調製

セファロース4B(ファルシア社製)60部を水洗した後、0.5Mリン酸カリウム緩衝液30(pH11.9)200部で洗浄する。別に0.5Mリン酸カリウム緩衝液120部中シアノゲンプロミド4.2部を0~5°Cで溶解させ、この溶解液を上記洗浄済セファロース4Bの中に徐々に加える。5°Cで約8分間振とうして反応を完結させ、まず35水で十分に洗浄した後、塩化ナトリウムを0.5M濃度相当量を含む0.1Mの炭酸水素ナトリウム緩衝液(pH8.3)(以下カップリング緩衝液という)で素早く洗浄する。

## 3 リガンド溶液の調製

1) 得られた[N-(6-アミノヘキシル)スルファモイル]ポリスルホタロシアニナト銅色素3部を、カップリング緩衝液120部の中に溶解し、不溶成分を沪過して除去

する。

## 4 フタロシアニン-糖結合体の調整

2) 得られたシアノゲンプロミド活性化アガロースゲル液の中に、3) 得られたりガンド液を加え、室温にて15時間振とうする。カップリング緩衝液で未反応のリガンドを洗い流した後、1Mモノエタノールアミン水溶液120部と混合し、4時間室温で振とうする。得られた液をカラムに移し、先ず8Mの尿素水溶液1000部で洗浄し、次いで3.8M塩化カリウム水溶液1000部で洗浄する。さらに水で十分に洗浄する。[N-(6-アミノヘキシル)スルファモイル]ポリスルホタロシアニナイト銅-アガロース結合体のゲル溶液が得られる。

## 15 5 フタロシアニン-糖結合体中のフタロシアニンの定量

フタロシアニンには銅原子が1個結合していることを利用して銅原子を原子吸光法により定量した。

フタロシアニン-糖結合体10mlを乾燥させ秤量する(255mg)。5つのルツボにそれぞれ20mgを秤りとり、500°C、10時間灰化操作を行う。これを6N塩酸5mlに溶かし、水で25mlにメスアップとしてサンプル溶液とする。

このサンプル溶液を原子吸光法により銅原子の濃度を測定した。これを硫酸銅溶液から求めた検量線により計算するとフタロシアニン-糖結合体1mlあたり296n moleの銅原子、すなわちフタロシアニンが結合していることがわかつた。

なお、市販されているセファロース4Bについても同様の操作を行つたが銅原子は含まれていなかつた。

## 6 アフィニティーコロマトグラフィーによる変異原の分離

4) 得た[N-(6-アミノヘキシル)スルファモイル]ポリスルホタロシアニナイト銅-アガロース結合体のゲル溶液をカラムに詰める。(0.7×5.5cm、2.1ml)これを50mM Tris-HClバッファー- pH9で平衡化した後、クロマトグラフィーを行う。

(i) Trp-P-1(トリプトファンを加熱分解して得られる変異原性物質の1種)300n mole(12.60 D A264)を1mlの50mM

Tris-HCl pH 9 に溶かし、カラムにかける。

同じバッファー、水、50%メタノールで順次溶出させ、Trp-P-1 の量を 264nm の吸光度によって定量した。このパターンを第 1 図に示した。

50mM Tris-HCl pH 9 バッファーを流しても Trp-P-1 は溶出しないが水、ついで 50%メタノールを加えると Trp-P-1 の溶出がみられた。回収率は 98% であった。

また、Trp-P-2 (トリプトファンを加熱分解して得られる変異原性物質の 1 種) 280nm mode (140D A264) についても同様の実験を行い、Trp-P-2 の量を 264nm の吸光度によって定量した。このパターンを第 2 図に示した。

Trp-P-1 と同様、水、50%メタノールを流すことによって Trp-P-2 の溶出がみとめられた。回収率は 97% であった。

(ii) 次に実際にトリプトファンを加熱分解して生じたタール及び残渣についてクロマトグラ

5

15

20

で 4 分間加熱し、そのタールと残渣から塩基性画分(1)をとつた。

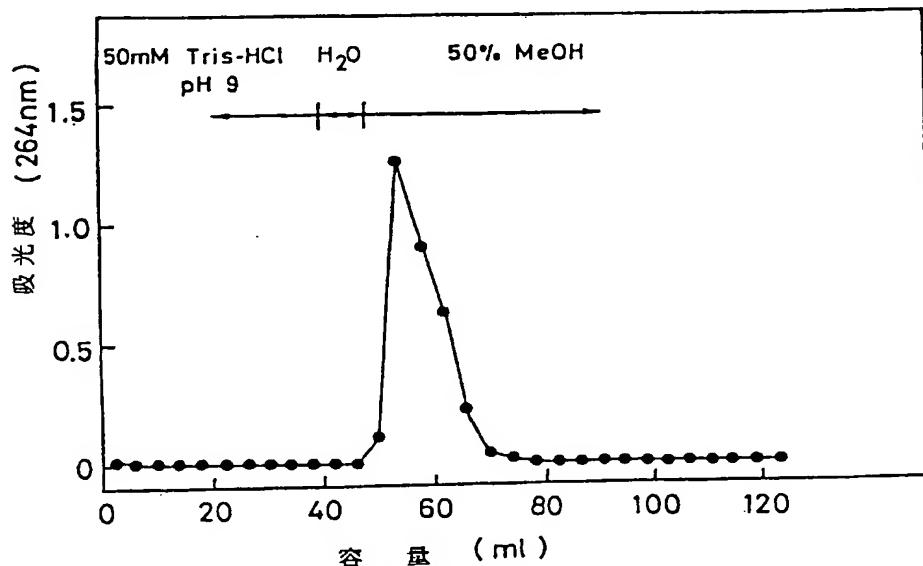
このうち、50mM Tris-HCl pH 9 に可溶なものをカラムによって分離した。トリプトファン 250mg 等量をカラムにかけ、4 ml ずつ分取した。溶出した各フラクションにつき 260nm の吸光量を測定した。また各フラクションにつき 260nm の吸光度を測定した。また各フラクションのうち、1/2 量について、TA98 (菌種)、+ S-9 (10μl) の条件で Ames テストを行つた、このパターンを第 3 図に示した。

第 3 図から、80~100ml 付近で 50mM Tris-HCl pH 9 により溶出するものは殆んどなくなり、ついで、水、50%メタノールにより吸着した変異原物質が分離したことがわかる。

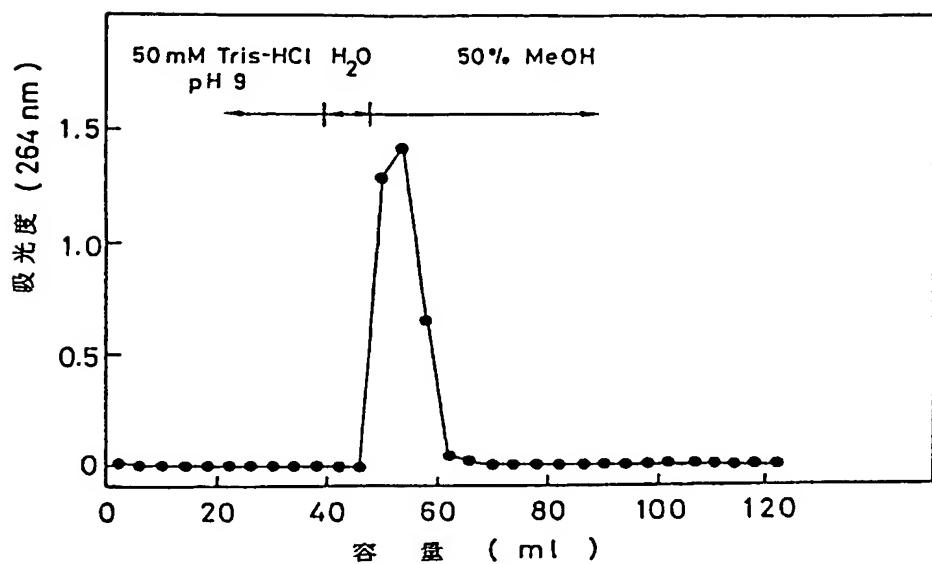
#### 図面の簡単な説明

第 1 図は Trp-P-1 の吸着溶出パターン、第 2 図は Trp-P-2 の吸着溶出パターン、そして第 3 図はトリプトファンの加熱により生じる変異原の吸着溶出パターンを示したものである。

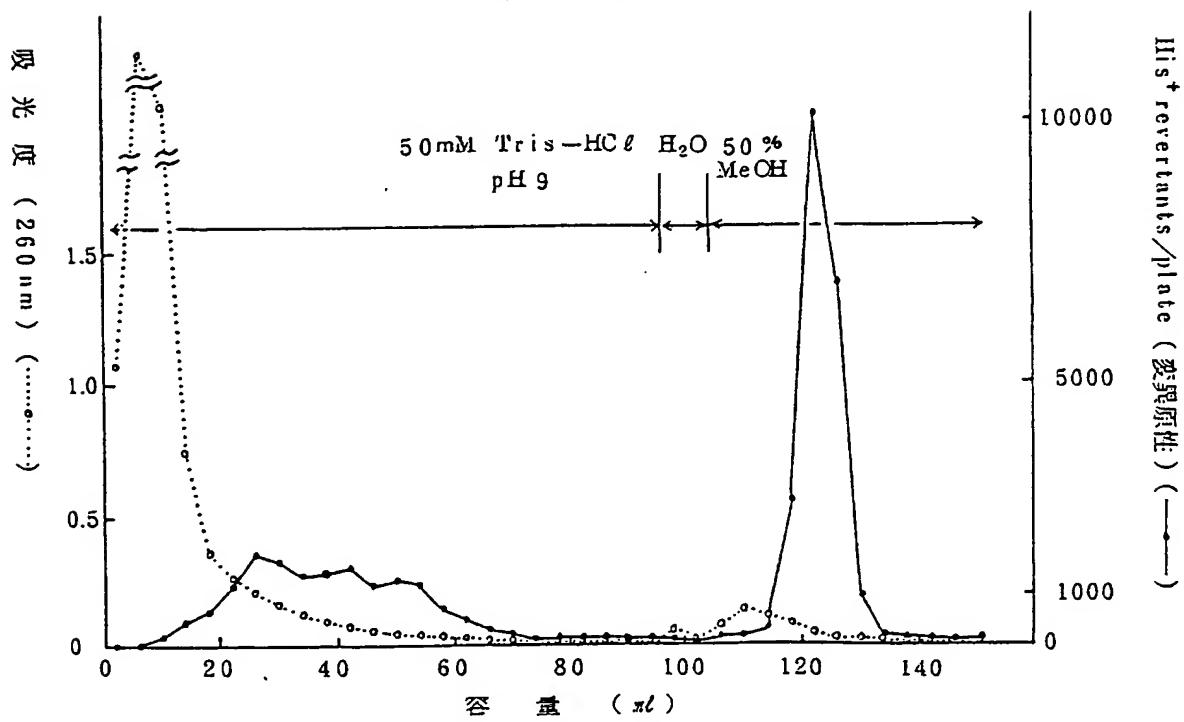
第 1 図



第 2 図



第 3 図



## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 58-170506  
(43)Date of publication of application : 07.10.1983

---

(51)Int.Cl. B01D 15/00

---

(21)Application number : 57-053384 (71)Applicant : SUMITOMO CHEM CO LTD  
(22)Date of filing : 30.03.1982 (72)Inventor : HAYATSU HIKOYA  
NAKANO MASAHIKE

---

**(54) TREATMENT OF MUTAGENIC SUBSTANCE**

**(57)Abstract:**

**PURPOSE:** To selectively remove or concentrate a mutagenic substance, in a treatment method of the mutagenic substance, by a method wherein the mutagenic substance in a solution is adsorbed by an org. material dyed through reaction with a phthalocyanine type reactive dye and, according to necessity, desorbed there from.

**CONSTITUTION:** A fiber, a yarn or a fabric comprising an org. material (cellulose or polyamide having a functional group such as a hydroxyl group, an amino group, a mercapto group or a carbonamide group) is dyed with a phthalocyanine type reactive dye and the resulting dyed org. material is added to a solution containing a variation inducing substance to adsorb the same at 0W10° C. In desorbing the same, said org. material is treated by a neutral, a weak alkaline or a weak acidic solvent such as methanol. This method is especially available with respect to the mutagenic substance with a plane structure having three or more aromatic rings.

---

**LEGAL STATUS**

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Claims

1. A process for treating mutagens, comprising substantially adsorbing mutagens in a solution to an organic material and desorbing the mutagens as required, the organic material being stained by reaction with a phthalocyanine reactive dye.